

Российская академия наук  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН  
Общество физиологов растений России  
Научный совет по физиологии растений и фотосинтезу  
РАН

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ  
СОВРЕМЕННОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
БИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

Всероссийская научная конференция с  
международным участием и школа для молодых  
ученых,  
посвященная 125-летию Института физиологии  
растений им. К.А. Тимирязева РАН

Москва, 23-27 ноября 2015 г.

**Сборник материалов**

**Москва  
2015**

## Влияние температуры на динамику темновой потере биомассы в культуре диатомовой водоросли *P. tricornutum*

Авсиян А.Л.

ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского  
РАН, г. Севастополь, Россия

### ВВЕДЕНИЕ

Темновая потеря биомассы (ТПБ) представляет важную составляющую в суточном балансе продуктивности микроводорослей и цианобактерий как в естественных фитопланктонных сообществах, так и при промышленном культивировании. ТПБ может составлять от 10 до 50% от дневной продукции [1, 2]. Основную долю ТПБ представляет эндогенный расход резервных соединений, главным образом, углеводов и липидов, путём темнового дыхания. Одновременно могут происходить процессы синтеза белка [3, 4, 5].

*Phaeodactylum tricornutum* – диатомовая водоросль, которая широко исследуется и применяется в альгобиотехнологии благодаря высокой скорости роста и способности накапливать биологически ценные вещества (полиненасыщенные жирные кислоты, пигменты – фукоксантин, диадinoxантин) [6, 7]. Исследования показывают, что при культивировании *P. tricornutum* в закрытых фотобиореакторах в условиях естественного освещения может достигаться продуктивность до  $2,57 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$  [6].

Показано, что интенсивность темнового дыхания микроводорослей не постоянна во времени, а снижается с течением темнового периода [8]. Для зелёных водорослей также было установлено влияние температуры на интенсивность дыхания [8]. Но исследований динамики ТПБ в литературе крайне мало. Ранее нами было проведено исследование и предложена эмпирическая модель, описывающая динамику ТПБ с учётом удельной скорости эндогенного расхода резервных соединений для цианобактерии *Arthrospira platensis* [9]. Целью данной работы было исследование динамики снижения биомассы в темноте в культуре *P. tricornutum*, и определение влияния температуры на кинетические характеристики ТПБ.

### МЕТОДЫ

В качестве объекта в эксперименте использовали альгологически чистую культуру одноклеточной диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin из коллекции культур ИМБИ РАН. Культивирование водорослей для предварительной адаптации осуществляли при свето-темновом режиме 16 : 8 (свет : темнота) на среде Тренкеншу А [10] в культиваторах плоско-параллельного типа с объёмом среды 3 л. Освещённость рабочей поверхности культиватора составляла 8 кЛк, температура – 20 °С. Ежедневно в конце темнового периода проводили 20 % обмен питательной среды. Из адаптированной культуры в конце светового периода отбирали по 150 мл в светонепроницаемые конические колбы на 250 мл в 3-кратной повторности и инкубировали при 4 вариантах температуры от 10 до 25 °С. Перемешивание культуры в темноте осуществлялось только непосредственно перед отбором проб. Отбор проб проводили через 1, 2, 3, 4, 6, 8 и 24 часа в темноте. В пробах измеряли оптическую плотность культуры на длине волны 750 нм в 5 мм кюветах на

фотоэлектроколориметре КФК-3, и рН на иономере И-160М. Биомассу (абсолютно сухой вес) вычисляли, используя коэффициент перехода от оптической плотности  $k_{D750} = 0,576 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ед. опт. пл.}^{-1}$  [7]

Общую темновую потерю биомассы (ТПБ) по отношению к начальной биомассе рассчитывали следующим образом:

$$NBL = \frac{B'_L - B_D}{B'_L} \cdot 100\% \quad (1),$$

где  $B'_L$  – биомасса в конце предыдущего светового периода,  $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$ ;  $B_D$  – биомасса в конце темнового периода,  $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$  [2].

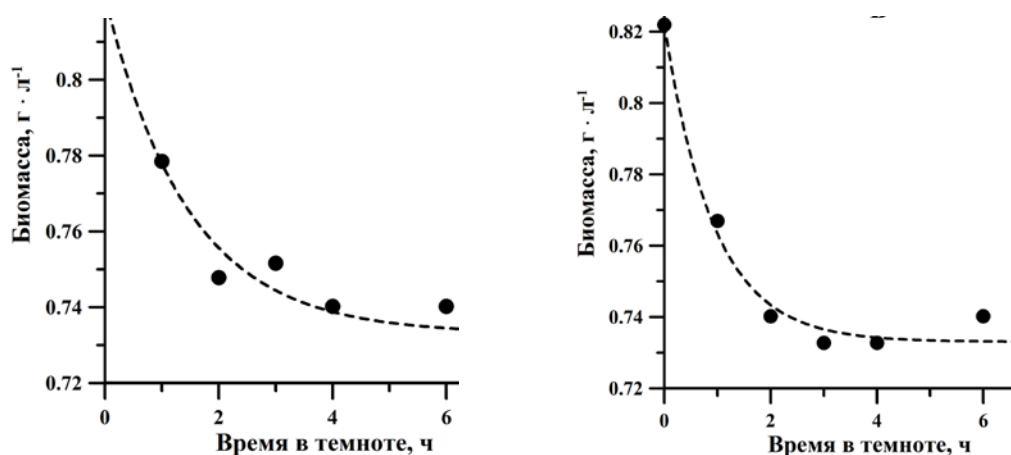
Для расчёта удельной скорости расхода биомассы использовали предложенную ранее и апробированную для *Arthrospira platensis* модель динамики снижения биомассы в темноте:

$$B = B_0 - L \cdot (1 - e^{-\mu_L \cdot t}) \quad (2),$$

где  $B_0$  – плотность культуры в начале темнового периода,  $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$ ;  $t$  – время от начала темнового периода, ч;  $L$  – общая потеря биомассы в темноте,  $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$ ;  $\mu_L$  – удельная скорость расхода резервных соединений,  $\text{ч}^{-1}$  [9].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Начальная плотность культуры во всех вариантах опыта составляла  $0,82 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ . При нахождении культуры микроводорослей в темноте во всех вариантах наблюдалось экспоненциальное уменьшение плотности культуры. Динамика темновой потери биомассы в культуре *P. tricornutum* представлена на рис. 1. На рисунках изображены данные за первые 8 ч в темноте, поскольку значения плотности культуры через 24 ч в темноте не отличались от значений через 8 ч.



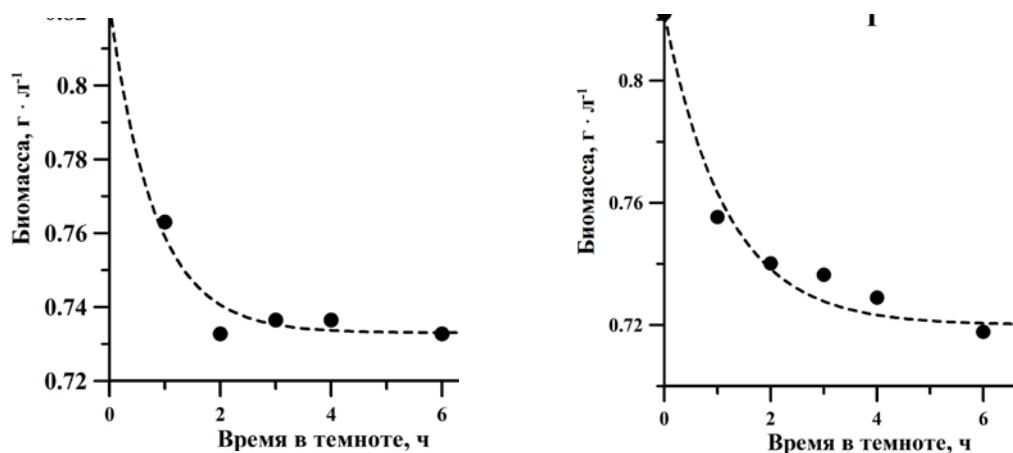


Рисунок 1. Динамика снижения биомассы в культуре *P. tricornutum* в темноте при различной температуре. Температура: А – 10 °С, Б – 15 °С, В – 20 °С, Г – 25 °С. Пунктирной линией обозначена аппроксимация данных по уравнению (2)

На основании полученных экспериментальных данных были рассчитаны количественные характеристики снижения плотности культуры в темноте. Была рассчитана ТПБ по уравнению (1), а также применено уравнение (2) для аппроксимации экспериментальных кривых и расчёта удельной скорости расхода резервных соединений. Расчётные значения представлены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристики темновой потери биомассы в культуре *P. tricornutum* при различной температуре

| Температура, °С  | 10   | 15   | 20   | 25   |
|--|------|------|------|------|
| Темновая потеря биомассы, %  | 10,8 | 10,8 | 10,8 | 12,4 |
| Удельная скорость расхода резервных соединений $\mu_L$ , ч <sup>-1</sup> . | 0,68 | 1,08 | 1,23 | 0,86 |

Общая ТПБ для вариантов 10, 15 и 20 °С была одинаковой и равной 10,8% от начальной биомассы, и лишь при 25 °С ТПБ была выше и составила 12,4%.

Уравнение (2) с высокой точностью позволило описать динамику темновой потери биомассы, с  $R^2$  от 0,972 до 0,986 для различных вариантов опыта. Удельная скорость расхода резервных соединений  $\mu_L$  отличалась в разных вариантах опыта и варьировала от 0,68 до 1,23 ч<sup>-1</sup>. В диапазоне 10 – 20 °С  $\mu_L$  линейно возрастала с повышением температуры.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведённого исследования было показано, что биомасса в культуре *P. tricornutum* в темноте снижается экспоненциально, при этом основной расход биомассы происходит в первые часы темноты. Такой характер зависимости сходен с результатами, полученными для *A. platensis* в более раннем исследовании [9], а также с литературными данными о снижении интенсивности дыхания со временем нахождения в темноте [8].

Апробация модели динамики биомассы в темноте показала для культуры *P. tricornutum* хорошее соответствие экспериментальным данным и может применяться для вычисления

удельной скорости расхода резервных соединений. Экспоненциальный характер снижения плотности культуры микроводорослей позволяет предположить, что в первые часы темноты наиболее интенсивно расходуются резервные соединения (главным образом, углеводы), синтезированные на свету, и снижение их содержания в клетках приводит к снижению интенсивности темнового дыхания и расхода биомассы.

Возрастание удельной скорости потери биомассы с ростом температуры согласуется с данными [8] об увеличении интенсивности дыхания при повышении температуры для зелёных водорослей, а также с данными [5] о повышении ТПБ при повышении температуры для цианобактерии *A. platensis*.

В диапазоне 10–20 °С ТПБ была одинаковой, и  $\mu_L$  линейно возрастала с увеличением температуры, в то время как при температуре 25 °С ТПБ была выше, а  $\mu_L$  – ниже чем при 20 °С. Это может объясняться тем, что температура 25 °С выше температурного оптимума для *P. tricornutum*, в связи с чем может изменяться характер метаболических процессов и интенсивность дыхания. То, что ТПБ не изменялась в диапазоне 10–20 °С также может объясняться тем, что *P. tricornutum* – холодолюбивый вид и при этих температурах не происходило выраженного ингибирования обменных процессов, а накопленные за световой период резервные соединения полностью расходовались в течение темнового периода независимо от температуры.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Eppley R. W., Sharp J. I. Photosynthetic measurements in the central North Pacific: The dark loss of carbon in 24-h incubations // Limnol. Oceanogr. 1975. V. 20. – P. 981–987.
2. Hu Q., Guterman H., Richmond A. Physiological characteristics of *Spirulina platensis* (Cyanobacteria) cultured at ultrahigh cell densities // J. Phycol. 1996. V. 32. P. 1066–1073.
3. Handa N. Carbohydrate metabolism in the marine diatom *Skeletonema costatum* // Mar. Biol. 1969. V. 4. P. 208–214.
4. Foy R. H., Smith R. V. The role of carbohydrate accumulation in the growth of planktonic *Oscillatoria* species // Brit. Phycol. J. 1980. V. 15, No 2. P. 139–150.
5. Torzillo G., Sacchi A., Materassi R., Richmond A. Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors // J. Appl. Phycol. 1991. V. 3. P. 103–109.
6. Molina Grima, E., Garcia Camacho, F., Sanchez Perez, J. A., Urda Cardona, J., Acien Fernandez, F. G., Fernandez Sevilla, J. M. Outdoor chemostat culture of *Phaeodactylum tricornutum* UTEX 640 in a tubular photobioreactor for the production of eicosapentaenoic acid // Biotechnol. Appl. Bioc. 1994. V. 20. P. 279–290.
7. Meiser A., Schmid-Staiger U., Trösch W. Optimization of eicosapentaenoic acid production by *Phaeodactylum tricornutum* in the flat panel airlift (FPA) reactor // J. Appl. Phycol. 2004. V. 16. P. 215–225.
8. Grobbelaar J. U., Soeder C. J. Respiration losses in planktonic green algae cultivated in raceway ponds // J. Plankton Res. 1985. V. 7. P. 497–506.
9. Авсиян А. Л. Динамика потери биомассы в культуре *Arthrospira platensis* (Nordst.) Geitler (Суанопрокариота) в темновых условиях // Альгология. 2014. Т. 24. С. 417–420.
10. Тренкеншу Р. П., Белянин В. Н., Сидько Ф. Я. Модель светозависимого роста морских микроводорослей (с учетом фотоингибирования). Красноярск: ИФСО, 1981. 63 с. (Препринт / Ин-т физики, сиб. отд-ие; 18Б).